

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005 年10 月13 日 (13.10.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/094608 A1

(51) 国際特許分類: A23J 3/34, 3/16, A23L 1/314

[JP/JP]; 〒5988540 大阪府泉佐野市住吉町 1 番地 不二製油株式会社 阪南事業所内 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2005/005852

(22) 国際出願日: 2005 年3 月29 日 (29.03.2005)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2004-100089 2004 年3 月30 日 (30.03.2004) JP
特願2004-144405 2004 年5 月14 日 (14.05.2004) JP

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 不二製油株式会社 (FUJI OIL COMPANY, LIMITED) [JP/JP]; 〒5420086 大阪府大阪市中央区西心斎橋 2 丁目 1 番 5 号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 加藤 裕之 (KATO, Hiroyuki) [JP/JP]; 〒5988540 大阪府泉佐野市住吉町 1 番地 不二製油株式会社 阪南事業所内 Osaka (JP). 坂田 哲夫 (SAKATA, Tetsuo) [JP/JP]; 〒5988540 大阪府泉佐野市住吉町 1 番地 不二製油株式会社 阪南事業所内 Osaka (JP). 勝丸 裕子 (KATSUMARU, Hiroko)

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING SOYBEAN PROTEIN AND PROCESS FOR PRODUCING PROCESSED MEAT FOOD USING THE SOYBEAN PROTEIN

(54) 発明の名称: 大豆蛋白の製造法及びこの大豆蛋白を用いた肉加工食品の製造法

(57) Abstract: It is intended to provide a method of producing a soybean protein whereby both of gel properties and emulsion properties can be improved with the use of transglutaminase. Namely, a process for producing a soybean protein by treating a soybean protein solution or a soybean protein slurry with transglutaminase, wherein heating is performed before or after the treatment with the transglutaminase.

(57) 要約: この発明は、トランスグルタミナーゼを利用してゲル物性及び乳化性両者を向上させる大豆蛋白の製造法を目的とする。大豆蛋白溶液または大豆蛋白スラリーにトランスグルタミナーゼを作用させて大豆蛋白を製造する方法において、トランスグルタミナーゼを作用させる前または後に加熱処理をする大豆蛋白の製造法。



WO 2005/094608 A1

明 細 書

大豆蛋白の製造法及びこの大豆蛋白を用いた肉加工食品の製造法 技術分野

[0001] この発明は、肉加工食品に練り込むのに適した粉末状の大豆蛋白の製造法及びこの大豆蛋白を利用した肉加工食品の製造法に関する。

背景技術

[0002] 従来より、かまぼこ、ちくわ、ハム・ソーセージなどの魚肉練製品、蓄肉加工食品は物性向上、コスト安定化や歩留り向上等の理由から、大豆蛋白に代表される植物性蛋白で魚肉、蓄肉の一部を代替して使用することが行われてきた。その際、大豆蛋白の求められる機能としてゲル化力や乳化力等がある。

[0003] 一方、トランスグルタミナーゼを利用して食用蛋白を架橋改質するなどの方法が知られている。この酵素は、ペプチド鎖内にあるグルタミン残基の γ -カルボキシアミド基のアシル転移反応を触媒する酵素である。このトランスグルタミナーゼは、アシル受容体としてのタンパク質中のリジン残基の ϵ -アミノ基に作用し、タンパク質分子の分子内において及び分子間において $\epsilon-(\gamma\text{-Glu})\text{-Lys}$ 架橋結合を形成する。また、水がアシル受容体として機能するときは、グルタミン残基が脱アミド化されてグルタミン酸残基になる反応を進行させる。

トランスグルタミナーゼの大豆蛋白に対する態様に関しては、特許文献1や特許文献2にみられるように、トランスグルタミナーゼを使用して蛋白のゲル物性を改良し、これらのゲルに硬さや弾力性を付与してきた。

[0004] しかし、大豆蛋白製造工程において、単にトランスグルタミナーゼを利用して蛋白のゲル物性を上げるだけでは、ソーセージなどの肉加工食品において大豆蛋白の機能(ゲル化力や乳化力など)を発揮することはできない。これは、大豆蛋白の乳化性は向上しないからと解される。

換言すれば、本発明者等の研究の結果、従来のようなトランスグルタミナーゼを利用した大豆蛋白は、ゲル物性は向上するものの、乳化性は逆に低下し、ソーセージ等の肉加工食品の食感が硬くなる物性は向上しないという知見を得ている。

[0005] ところで、通常大豆蛋白製造における殺菌工程は、これに伴う蛋白変性によるゲル物性低下を極力抑えるために、殺菌に必要な最低限の熱履歴しかかけないのが通例である。下記引用文献7に開示の発明には、トランスグルタミナーゼを作用させた大豆蛋白溶液を加熱殺菌しているが、特許文献3では120℃で10秒が実施例に開示されている。一方、特許文献4ではかかる殺菌温度より高い温度処理をトランスグルタミナーゼ処理した大豆蛋白に加えている。ここでは70～200℃で2秒～10分好ましくは100～150℃、5秒～5分が開示されている。

しかし、ここでの大豆蛋白はCaなどのアルカリ土類金属で凝固し豆腐のように不溶化しカード化した大豆蛋白でありいくらトランスグルタミナーゼを作用させて可溶化させゲル化力を回復させたとしても、たとえ色調は白くなるかもしれないが、ゲル化力も乳化力も低いものであり、本願発明のような水溶性でゲル化力と乳化力を兼ね備えるものではない。

以上のように、特許文献3や特許文献4に開示の技術では大豆蛋白のトランスグルタミナーゼ反応により低下する乳化力を十分に補うことは極めて困難である。

[0006] (参考文献)

特許文献1:特開昭58-149645号公報

特許文献2:特開平1-27471号公報

特許文献3:特開平2-257831号公報

特許文献4:特開平4-63548号公報

特許文献5:特公平1-50382号公報

特許文献6:特開平1-300889号公報

非特許文献1:Kumazawa,Y.,Seguro,K.,Takamura,M.,and Motoki,M.(1993)J.Food Sci.58,1062-1065.

非特許文献2:最新医学,21,622-627(1966)

非特許文献3:「昭和63年度日本水産学会秋期大会講演要旨集」167頁

非特許文献4:「平成2年度日本水産学会春季大会講演要旨集」219頁

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、トランスグルタミナーゼを利用してゲル化力だけでなく乳化力も同時に向上させた大豆蛋白を得ることを目的とした。また、本発明は、ソーセージ等の畜肉加工食品の食感が硬もろくなる、つまり肉的食感に近くなるよう物性を改善することを目的とした。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明者等は、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、脱脂豆乳の酸沈殿カードスラリーまたはその中和液を予め熱処理し、これにトランスグルタミナーゼを作用させることにより上記課題を達成できることを見出した。

また、脱脂豆乳または該豆乳を等電沈殿させて回収した酸沈殿カードを中和して得た大豆蛋白溶液などにトランスグルタミナーゼを特定の反応状態まで作用させた後、特定熱履歴の高熱履歴の殺菌処理を施すことにより上記課題を解決できることを見出した。

以上のようにして得た大豆蛋白を用いることにより畜肉加工食品の食感をより肉的に仕上げるよう改善できる知見を得た。

本発明者等はかかる知見により本発明を完成するに到ったものである。

即ち、本発明は、大豆蛋白溶液または大豆蛋白スラリーにトランスグルタミナーゼを作用させて大豆蛋白を製造する方法において、トランスグルタミナーゼを作用させる前または後に加熱処理をすることを特徴とする大豆蛋白の製造法である。

大豆蛋白スラリーは脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させた酸沈殿スラリーが好ましい。

大豆蛋白溶液は脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させて中和した大豆蛋白溶液が好ましい。

トランスグルタミナーゼを作用させる前の加熱処理は70～210℃で1秒～60分加熱することが好ましい。

トランスグルタミナーゼを作用させる後の加熱処理は100～200℃で20～80秒加熱することが好ましい。

トランスグルタミナーゼを作用させた後加熱処理する場合のトランスグルタミナーゼの作用の程度は、トランスグルタミナーゼ反応後Glu-Lysの結合数が、蛋白質1g当た

り $10^{10} \sim 10^{25}$ 個存在することが好ましい。

また、本発明は、上記のいずれかの方法により製造された大豆蛋白及び肉原料を混合成型し、加熱することを特徴とする肉加工食品の製造法である。

大豆蛋白、肉及び水をブレンドまたは細断しケーシングに充填し加熱して肉加工食品を製造することができる。

発明の効果

[0009] 本発明の方法により、ゲル化力及び乳化力を同時に満足する大豆蛋白の製造が可能となったものである。

これまでの大豆蛋白高物性化の一般的手法であった、乾式・湿式加熱処理や酸沈殿カード水洗処理といった高コストかつ環境負荷の高い方法を選択せずとも、ソーセージ物性に高いゲル化力・乳化力を反映させることができる大豆蛋白の製造が可能となったものである。

そして、ソーセージのような畜肉加工食品に本発明の大豆蛋白を用いた場合にそのゲル化力及び乳化力を同時に発揮して畜肉加工食品の食感をしっかりさせてより肉食的食感に近く高級感を持たせるようできるものである。

発明を実施するための最良の形態

[0010] まず、本発明の、大豆蛋白溶液または大豆蛋白スラリーにトランスグルタミナーゼを作用させて大豆蛋白を製造する方法において、トランスグルタミナーゼを作用させる前に加熱処理をする大豆蛋白の製造法について説明する。

トランスグルタミナーゼを作用させた後で加熱する方法は後述する。

本発明に用いる大豆蛋白溶液は、脱脂豆乳又はその酸沈カードをアルカリ金属化合物で中和した大豆蛋白溶液を用いることができる。

脱脂豆乳は、脱脂大豆に水を加えて攪拌などしてスラリー状となし、遠心分離等しておからと脱脂豆乳を分離して得ることが出来る。その他濾過などの固液分離手段を利用することも出来る。

大豆蛋白溶液は、該脱脂豆乳を酸を加えるなどして等電沈殿させ、該沈殿スラリーからホエーを除き、残った大豆蛋白沈殿を中和して大豆蛋白溶液とすることが出来る。ここで中和に用いるアルカリがNaOHやKOHのようなアルカリ金属化合物であるこ

とが重要である。 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ や $\text{Mg}(\text{OH})_2$ のようなアルカリ土類金属化合物は大豆蛋白を豆腐のように凝固させる作用があり、後のトランスグルタミナーゼ処理や高温加熱処理を行ってもゲル化力もある程度しか回復せず乳化力も回復しないので好ましくない。

なお、ここに用いる脱脂大豆は、大豆から大豆油を圧搾、溶剤抽出した残りの低変性脱脂大豆を用いることができる。

次に、本発明に用いる大豆蛋白スラリーは、脱脂大豆に加水したスラリーまたは前記脱脂豆乳を等電沈殿させたスラリー、該スラリーからホエーを除き沈殿した酸沈殿カードに加水した酸沈殿スラリーを用いることができる。

[0011] 本発明の具体的な加熱処理は、脱脂大豆に加水してスラリーとなし、おからを除去して豆乳となし、該豆乳を等電点沈殿させてホエーを除き沈殿した酸沈殿カードを加水して酸沈殿スラリーとなしこれを中和して大豆蛋白溶液となし、噴霧乾燥などして粉末状の分離大豆蛋白を製造する工程において、噴霧乾燥前の水系下でいずれの工程において加熱しても良いが、脱し大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させた酸沈殿スラリーまたは、この酸沈殿スラリーを中和した大豆蛋白溶液を加熱処理することが好ましい。

このときの酸沈殿スラリーの乾燥固形分濃度は25重量%以下、好ましくは15重量%以下が適当である。下限は1%あるいはそれより低い濃度でも良いが生産コストがかかるので通常10%以上が適当である。

また中和した大豆蛋白溶液の乾燥固形分濃度は粘度が上昇するので20重量%以下、好ましくは15重量%以下が適当である。この場合も下限は1重量%未満でも可能であるが生産コストがかかるので通常10重量%以上が適当である。

[0012] この加熱処理は、通常70～210℃で1秒～60分、間接加熱、直接蒸気吹き込み加熱など利用することができるが、好ましくは100～160℃で1秒～60秒の直接蒸気吹き込み加熱が適当である。加熱が弱いと蛋白への熱変性が十分でなく、逆に強すぎると熱変性が強すぎて逆に物性(ゲル化力や乳化力)低下といった悪影響を受ける。

[0013] 本発明において、上記のように加熱処理した後トランスグルタミナーゼ処理することが適当である。

加熱処理とトランスグルタミナーゼ処理のいずれの条件が欠けてもゲル化力と乳化力を同時に満足する大豆蛋白を得ることが出来ない。

前記加熱処理を行わない、もしくは加熱が不十分であると、たとえトランスグルタミナーゼを作用させても得られる大豆蛋白のゲル化力は十分でも、乳化力が大きく低下し、ソーセージに利用した場合に前述のような大豆蛋白としての機能を発揮できなくなってしまう。

[0014] 次に、このように加熱処理した後にトランスグルタミナーゼ処理を行うことについて説明する。

本発明に用いるトランスグルタミナーゼには、カルシウム非依存性のものとカルシウム依存性のものがある。前者の例としては微生物由来のもの（例えば、特許文献2参照）をあげることができる。後者の例としてはモルモット肝臓由来のもの（特許文献5参照）、魚由来のもの（例えば、非特許文献3及び非特許文献4参照）をあげることができる。この他、遺伝子組み替えにより製造されるもの（特許文献6参照）等、いずれのトランスグルタミナーゼでも用いることができ、起源及び製法に限定されることはない。但し、機能性及び経済性の点から、好ましくはカルシウム非依存性のものが適当であり、上述の微生物由来のトランスグルタミナーゼ（特許文献2）は、その例である。

[0015] 尚、本発明でいうトランスグルタミナーゼの活性単位は、次のようにして測定され、かつ定義される。即ち、ベンジルオキシカルボニル-L-グルタミルグリシンとヒドロキシルアミンを基質として反応を行い、生成したヒドロキサム酸をトリクロル酢酸存在下で鉄錯体を形成させた後、525nmの吸光度を測定し、ヒドロキサム酸の量を検量線より求め、活性を算出する（特許文献2参照）。

[0016] 本発明において、トランスグルタミナーゼを作用させる前に、脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させてから加熱するか、脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させて中和してから加熱することが好ましいことを前述した。

このときのトランスグルタミナーゼの添加割合は、豆乳中の粗蛋白あたり以下のようにになる。

例えば、トランスグルタミナーゼの量は脱脂豆乳の粗蛋白質1gあたり0.01～100ユニット(U)という広範な範囲を使用しうるが、一度加熱した蛋白溶液はトランスグルタミ

ナーゼを作用させることで粘度が上昇しやすく、反応が進みすぎるとゲル化も起こしてしまうため、大量生産に使用するときには、1.0U未満であるのがよく、より好ましくは0.05～0.7Uが適当である。トランスグルタミナーゼの量が0.01U未満の場合には、ゲル物性向上効果が充分でなく、100Uを超える場合には反応制御が困難になる。

[0017] 本発明において、トランスグルタミナーゼを作用させる温度は20～80℃、好ましくは40～60℃が適当である。温度が20℃未満では酵素反応が遅く、80℃以上では酵素の失活が促進される。

[0018] 本発明において、トランスグルタミナーゼの作用時間は0.01～120分、好ましくは1～60分が適当である。反応時間が極端に短い場合には、充分な反応効果が得られず、長い場合には反応液の粘度が上昇するだけでなく、溶液中に菌の増殖を誘発し、腐敗する恐れがある。

[0019] 本発明において、トランスグルタミナーゼを反応させた脱脂豆乳酸沈殿カードまたはその中和物は、公知の加熱殺菌処理、及び噴霧乾燥などの乾燥手段を利用して乾燥して粉末状大豆蛋白とすることが出来る。

酸沈殿スラリーの場合は中和して、大豆蛋白溶液となし、噴霧乾燥などして粉末状の大豆蛋白を製造することが出来る。

大豆蛋白溶液の場合はそのまま噴霧乾燥などして粉末状の大豆蛋白を製造することが出来る。

[0020] 次に、大豆蛋白溶液または大豆蛋白スラリーにトランスグルタミナーゼを作用させて大豆蛋白を製造する方法において、トランスグルタミナーゼを作用させる後に加熱処理をする大豆蛋白の製造法について説明する。

本発明に用いる大豆蛋白溶液または大豆蛋白スラリーは前述のものを利用することが出来るが、トランスグルタミナーゼを作用させた後加熱する場合は大豆蛋白スラリーより大豆蛋白溶液の方が好ましい。

この大豆蛋白溶液としては前述したように、脱脂豆乳又はその酸沈カードをアルカリ金属化合物で中和した大豆蛋白溶液が適当である。

[0021] 本発明に用いるトランスグルタミナーゼは前述のものを利用することが出来る。

本発明において、脱脂豆乳又は大豆蛋白溶液にトランスグルタミナーゼを作用させ

る場合、そのトランスグルタミナーゼの作用の程度が、トランスグルタミナーゼ反応後 Glu-Lysの結合数が、蛋白質1g当たり $10^{10} \sim 10^{25}$ 個、好ましくは $10^{15} \sim 10^{21}$ 個存在するようにすることが適当である。少なすぎるとゲル物性の向上が十分でなく、多すぎるとゲル物性向上を逆に阻害するだけでなく乳化力をも大きく低下させる。

ここに、トランスグルタミナーゼの作用の程度は、トランスグルタミナーゼの結合数を測定して判断することができる。

このトランスグルタミナーゼの結合数を測定する方法として、大豆蛋白をGly-Lys結合だけが残存するようにプロテアーゼ分解させた後、HPLCによる定量を行うか(非特許文献1～3参照)、もしくはトランスグルタミナーゼ反応の際、Gly-Lys結合に伴いこの結合1個に対しアンモニアを1分子遊離させるため、このアンモニアを定量して Glu-Lys結合数を算出する方法がある。本発明者等は市販されているキットを利用することが出来るので後者の方法を採用した。

具体的には、まずトランスグルタミナーゼ反応中和液に除蛋白試薬を加えて除蛋白することにより、呈色阻害成分除去と同時にトランスグルタミナーゼを含めた諸酵素を失活させる。この上清に、フェノール、ペンタシアノニトロシル鉄(III)酸ナトリウムを加え、さらにアルカリ性とした後、次亜塩素酸ナトリウムで酸化すると、インドフェノールを生成して青色を呈する。この青色の吸光度を測定することで試料中のアンモニア窒素濃度を求める(非特許文献2)。この濃度より、Gly-Lys結合1個に対しアンモニアを1分子遊離させることを考慮し、トランスグルタミナーゼによるGlu-Lysの結合数を算出する。

[0022] 上記の程度のようなトランスグルタミナーゼを作用させるには、脱脂豆乳や大豆蛋白溶液に加えるトランスグルタミナーゼの量や作用温度、pH、時間などを調整することが出来る。例えば、トランスグルタミナーゼの量は脱脂豆乳の粗蛋白質1gあたり0.01～100ユニット(U)という広範な範囲を使用しうるが、好ましくは0.05～0.7Uが適当であり、100Uを超える場合には反応制御が困難になる。トランスグルタミナーゼを作用させる温度は0～80℃、好ましくは40～60℃が適当である。トランスグルタミナーゼの作用時間は0.01～120分、好ましくは1～60分が適当である。反応時間が極端に短い場合には、十分な反応効果が得られず、長い場合には反応液の粘度が上昇

するだけでなく、溶液中に菌の増殖を誘発し、腐敗する恐れがある。

[0023] 以上のようにトランスグルタミナーゼを作用させて、目的とするGlu-Lys結合数を得ることが肝要であり、トランスグルタミナーゼの反応条件は目的のGlu-Lys結合数を得るために適宜調整することが出来る。本発明はかかる程度のトランスグルタミナーゼを作用させることだけで目的の大豆蛋白を得ることは出来ず、次に述べる高温加熱処理と組み合わせることによって初めて目的の大豆蛋白を得ることが出来るものである。

[0024] 次に、トランスグルタミナーゼを作用させた後に加熱処理を行う。

この加熱は、100～200℃で20～80秒、好ましくは130～160℃で30～60秒で行うことが出来る。即ち、トランスグルタミナーゼを作用させることによっていったん大豆蛋白の ϵ -(γ -Glu)-Lys架橋結合するなどして大豆蛋白を架橋改質した後、強度の加熱により大豆蛋白を熱変性させてその高次構造を変化させることによりゲル化力と乳化力を発揮させるものである。このため、本発明における高温加熱の程度は通常殺菌に利用される加熱温度条件より過酷なものである。

この加熱処理は前記のように100～200℃で20～80秒、好ましくは130～160℃で30～60秒、間接加熱、直接蒸気吹き込み加熱など利用することができるが、好ましくは直接蒸気吹き込み加熱が適当である。加熱が弱いと蛋白への熱変性が十分でなく、逆に強すぎると熱変性が強すぎて逆に物性(ゲル化力や乳化力)低下といった悪影響を受ける。特に、加熱時間は重要でありたとえ高温でも短時間であれば目的の効果は得られない。

[0025] 以上のように特定の程度のトランスグルタミナーゼの作用と特定程度の高温加熱の組み合わせによってはじめてゲル化力と乳化力の両方に優れた大豆蛋白を得ることが出来るものである。即ち、トランスグルタミナーゼ作用と加熱変性のいずれの条件が欠けても大豆蛋白のゲル化力と乳化力を同時に満足することが出来ない。

換言すれば、前記加熱処理を行わない、もしくは加熱が不十分であると、たとえトランスグルタミナーゼを作用させても得られる分離大豆蛋白のゲル化力は十分でも、乳化力が大きく低下し、ソーセージ等の畜肉加工食品に利用した場合に分離大豆蛋白としての機能(ゲル化力と乳化力)を発揮できなくなってしまう。

[0026] 本発明において、トランスグルタミナーゼを反応させて高熱履歴加熱をさせた脱脂豆乳酸沈カードまたはその中和物は、公知の噴霧乾燥などの乾燥手段を利用して乾燥して粉末状分離大豆蛋白とすることが出来る。

[0027] 以上のように、本発明の方法により、ゲル化力及び乳化力の両者を向上させた分離大豆蛋白の製造が可能となり、これまでの大豆蛋白ゲル化力・乳化力向上の一般的手法であった、乾式・湿式加熱処理や酸沈カード水洗処理といった高コストかつ環境負荷の高い方法を選択せずとも、ソーセージ物性に高物性を反映させることができる大豆蛋白の製造が可能となったものである。

[0028] 次に、本発明の方法により得られた大豆蛋白を用いた肉加工食品の製造法について説明する。

本発明は、前記の方法により製造された大豆蛋白及び肉原料を混合成型し、加熱することを特徴とする肉加工食品の製造法である。

具体的には、前記大豆蛋白、肉及び水をブレンドまたは細断しケーシングに充填し加熱して肉加工食品を製造することが出来る。

本発明の肉加工食品はソーセージ、フランクフルトまたはその他の肉製品を例示することが出来る。

本発明に用いる肉は前記分離大豆蛋白のゲル化力と乳化力を発揮できる鳥獣肉、特に畜肉が適当である。特に好ましい肉材料は、豚肉、牛肉および鶏肉から骨を除いたもの、豚肉切り落とし、牛肉切り落とし、および豚背脂を含む、肉材料である。

本発明において肉が脂に富んだ肉であるか、あるいは後で獣脂を添加することがこの発明の大豆蛋白のゲル化力と乳化力を発揮させるのに好適である。

本発明に用いる肉は、該肉加工食品中に30～70重量%、好ましくは35～50重量%が適当である。

[0029] 本発明に用いる大豆蛋白は前述の方法により製造することが出来る。

本発明に用いる大豆蛋白は該肉加工食品中に0.1～10重量%、好ましくは1～5重量%が適当である。少なすぎると大豆蛋白の機能が発揮できず、多すぎると大豆蛋白のゲル質が大きく反映されてしまい、肉加工食品の品質が大きく変わってしまう恐れがある。本発明に用いる水は畜肉加工食品中20～60重量%、好ましくは25

～40重量%添加することが出来る。少なすぎると大豆蛋白の水和が進まないため機能が発揮されず、多すぎると肉加工食品そのものの食感が柔らかく水っぽいものになってしまう。

本発明において、保存料、香味料、または着色料など公知の食品添加物を用いることが出来る。

本発明におけるブレンドまたは細断手段は、ミキサーやサイレントカッターなどの公知の手段を採用することが出来る。

[0030] 本発明に用いるケーシングは公知の食用ケーシングを利用することが出来る。該ケーシングに充填する手段は公知の練製品充填機などを利用することが出来る。

ケーシングに充填した後加熱処理して目的の畜肉加工食品を得ることが出来る。この加熱は、内部温度60～90℃、好ましくは65℃～80℃にて加熱することが出来る。低すぎると加熱殺菌の効果が十分でなく、高すぎると過加熱により肉加工食品の食感が硬くなりすぎる等、品位を保てなくなってしまう。

以上のようにしてソーセージ、フランクフルトなどの肉加工食品を製造することが出来る。

[0031] 以上述べたように、本発明のトランスグルタミナーゼを作用させる前または後に加熱処理をした大豆蛋白を用いた肉加工食品は、かかる処理をしない分離大豆蛋白を用いた肉加工食品に比べ肉本来の食感を損なわず、硬さの有る歯切れの良い食感を持つものである。

例えば、得られた肉加工食品をレオメーター等で測定したときに、本発明の処理をしていない大豆蛋白を用いた畜肉加工食品に比べ本発明の大豆蛋白を用いたものはその破断荷重が上昇するものである。

実施例

[0032] 以下、実施例により本発明の実施態様を具体的に説明する。

まず、トランスグルタミナーゼを作用させる前に加熱する方法の実施例を例示する。

[0033] <実施例1～4および比較例1～3>

低変性脱脂大豆100重量部に対して、水1000重量部を添加して40℃、30分間抽出を行った。抽出後、遠心分離でオカラを除き脱脂豆乳を得た。

これらを塩酸を用いてpH4.5に調整して等電点沈殿させ、遠心分離で酸沈殿カードを得て、これを加水し水酸化ナトリウムで中和液(固形分10重量%)を得た。

ここで、直接蒸気加熱処理を未処理(比較例1、2)、110℃×10秒(実施例1)、140℃×10秒(実施例2)、140℃×30秒(実施例3、比較例3)を実施して加熱処理済酸沈殿カード中和液を得た。

ここに粗蛋白質1gに対して無添加(比較例1、3)及び0.5U(実施例1～3、比較例2)のトランスグルタミナーゼ「TG-Sマイルド」(味の素(株)製)を添加し、50℃・30分反応させた。140℃で10秒の加熱後、噴霧乾燥にて各分離大豆蛋白を得た。

[0034] 得られた分離大豆蛋白のゲル物性及び乳化性を確認した。ゲル物性は、各大豆蛋白の18%水溶液を80℃にて30分加熱した時の加熱ゲル強度をレオメーター(山電社製)、プランジャー球直径8mmにて測定したゼリー強度)で評価した。

乳化性は、2%食塩を含む1%大豆蛋白溶液4部に大豆油を1部加えてホモゲナイザーにて攪拌させ、この乳化物を500倍に水で希釈して、吸光光度計にて500nmでの吸光度を調べた。

[0035] (表1)

	予備加熱	T G 処理	ゼリー強度 (g・cm)	乳化性 (OD500)
実施例 1	110℃×10 秒	○	312	0.288
実施例 2	140℃×10 秒	○	289	0.295
実施例 3	140℃×30 秒	○	258	0.388
比較例 1	—	—	188	0.280
比較例 2	—	○	322	0.242
比較例 3	140℃×30 秒	○	122	0.441

[0036] 表1より予備加熱処理のみでは乳化性は上がるもののゲル物性は低下し、トランスグルタミナーゼ処理のみではゲル物性は向上するものの乳化性は低下する。両方の処理を行うことで、ゲル物性と乳化性の両方を向上させることができた。

[0037] 前記実施例1～3及び比較例1～3で得られた各粉末状大豆蛋白素材大豆蛋白粉末と豚脂、水を前述の割合であらかじめ混合し、エマルジョンカード(乳化物)を得た。これと、豚ウデ肉、チキンすり身、豚脂、小麦粉および水をそれぞれ5部、20部、25部、15部、5部および30部の割合で混合カッティングし、調味料を添加してさらに混合し、コラーゲンチューブに詰め、65℃で乾燥、70℃でくん煙、75℃で蒸煮を行っ

てソーセージ(それぞれ試料1、2、3、4及び5)を得た。

- [0038] このようにして得た試料1～5のソーセージをそれぞれ評価した結果を下記表2に示す。食感は10名のモニターにより1～5点の5段階評価の官能評価にて行い、全員の点数の平均を算出した(ソーセージが硬く噛み応えのある程点数の高いものとした。)。また、このソーセージのテクスチャー解析を行うべく、テクスチャーアナライザー「TA・XT2」(栄弘精機製)で測定した。

- [0039] (表2)

	官能評価 (点)	テクスチャー解析		付着性
		荷重	凝集性	
実施例 1	2.9	254.3	0.448	113.9
実施例 2	3.4	283.8	0.477	135.4
実施例 3	4.8	329.7	0.480	158.3
比較例 1	2.2	247.5	0.446	110.4
比較例 2	1.7	220.1	0.431	94.9
比較例 3	2.6	250.2	0.447	111.8

- [0040] 表2より、特にゲル物性と乳化活性両者を兼ね備えた実施例3はソーセージにおいてもその機能を発揮させることができた。

- [0041] 次に、トランスグルタミナーゼ処理後加熱処理する製造法の実施例を説明する。
(実施例5、6および比較例4～8)

低変性脱脂大豆100重量部に対して、水1000重量部に添加溶解させた抽出水溶液を添加して40℃、30分間抽出を行った。抽出後、遠心分離でオカラを除き脱脂豆乳を得た。これらを塩酸を用いてpH4.5に調整して等電点沈殿させ、遠心分離で酸沈カードを得て、これを加水し水酸化ナトリウムで中和液を得た(実施例5、6、比較例4～6)。また、別途中和の前に酸沈カードに水酸化カルシウムをカード固形量に対し1%添加し、その後水酸化ナトリウムで中和液を得た(比較例7、8)。ここに粗蛋白質1gに対して無添加(比較例4、6、7)及び0.5U(実施例5～6、比較例5、8)のトランスグルタミナーゼ(「TG-Sマイルド」(味の素(株)製)を添加し、50℃×30分反応させた。ここで、直接蒸気加熱処理を140℃×10秒(比較例4、5)、140℃×40秒(実施例5)、155℃×50秒(実施例6、比較例6～8)を実施して噴霧乾燥後、大豆蛋白を得た。

[0042] 得られた大豆蛋白のGlu-Lys結合数、ゲル物性及び乳化性を確認した。Glu-Lys結合数は「アンモニアテストワコー」(和光純薬(株)製)を使用してアンモニア数を定量し、トランスグルタミナーゼ未反応の数を差し引くことでトランスグルタミナーゼによる遊離アンモニア数とし、Glu-Lys結合数を算出した。ゲル物性は、各大豆蛋白の18%水溶液を80℃×30分加熱した時の加熱ゲル強度をレオメーター(山電社製、プランジャー球直径8mmにて測定したゼリー強度)で評価した。乳化性は、2%食塩を含む1%大豆蛋白溶液4部に大豆油を1部加えてホモゲナイザーにて攪拌させ、この乳化物を500倍に水で希釈して、吸光光度計にて500nmでの吸光度を調べた。

[0043] (表3)

	加熱処理	Glu-Lys 結合数	ゼリー強度 (g・cm)	乳化性 (OD500)
実施例 5	140℃×40 秒	2.69×10^{18}	435.2	0.334
実施例 6	155℃×50 秒	2.80×10^{18}	398.2	0.360
比較例 4	140℃×10 秒	—	173.8	0.311
比較例 5	140℃×10 秒	3.01×10^{18}	409.0	0.233
比較例 6	155℃×50 秒	—	118.9	0.401
比較例 7	155℃×50 秒	—	168.2	0.224
比較例 8	155℃×50 秒	2.87×10^{18}	168.2	0.204

[0044] 表3より強加熱処理のみでは乳化性は上がるもののゲル物性は低下し、トランスグルタミナーゼ処理のみではゲル物性は向上するものの乳化性は低下する。両方の処理を行うことで、ゲル物性と乳化性の両方を向上させることができた。また、カルシウム添加によりトランスグルタミナーゼ処理で物性は回復するものの、乳化性は大きく低下する。

[0045] 前記実施例5、6及び比較例4～6で得られた各粉末状大豆蛋白素材大豆蛋白粉末と豚脂、水を前述の割合であらかじめ混合し、エマルジョンカード(乳化物)を得た。これと、豚ウデ肉、チキンすり身、豚脂、小麦粉および水をそれぞれ5部、20部、25部、15部、5部および30部の割合で混合カッティングし、調味料を添加してさらに混合し、コラーゲンチューブに詰め、65℃で乾燥、70℃でくん煙、75℃で蒸煮を行ってソーセージ(それぞれ試料6、7、8、9及び10)を得た。

[0046] このようにして得た試料6～10のソーセージをそれぞれ評価した結果を下記表4に示

す。食感は10名のモニターにより1～5点(点数が高いほど硬さがある)の5段階評価の官能評価にて行い、全員の点数の平均を算出した(ソーセージが硬く噛み応えのある程点数の高いものとした。)。また、このソーセージのテクスチャー解析を行うべく、テクスチャーアナライザー「TA・XT2」(栄弘精機製)で測定した。

[0047] (表4)

	官能評価 (点)	テクスチャー解析 荷 重	凝集性	付着性
実施例 5	3.9	262.1	0.467	122.4
実施例 6	4.1	281.3	0.475	133.6
比較例 4	2.2	244.1	0.448	109.3
比較例 5	1.7	218.3	0.438	95.6
比較例 6	2.5	247.0	0.445	109.9

[0048] 表4より、特にゲル物性と乳化活性両者を兼ね備えた実施例5、6はソーセージにおいてもその機能を発揮させることができた。

産業上の利用可能性

[0049] 本発明により、大豆蛋白のゲル化力と乳化力の両方を向上させることが可能になり、低コストの手法で、ソーセージなど畜肉加工食品の食感をしっかりさせてより肉食的食感に近く高級感を持たせることができるようになった。

請求の範囲

- [1] 大豆蛋白溶液または大豆蛋白スラリーにトランスグルタミナーゼを作用させて大豆蛋白を製造する方法において、トランスグルタミナーゼを作用させる前または後に加熱処理をすることを特徴とする大豆蛋白の製造法。
- [2] 大豆蛋白スラリーが脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿させた酸沈殿スラリーである請求項1の製造法。
- [3] 大豆蛋白溶液が脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を等電点沈殿によりホエーを除去させた後中和した大豆蛋白溶液である請求項1の製造法。
- [4] トランスグルタミナーゼを作用させる前の加熱処理が70～210℃で1秒～60分加熱する請求項1の製造法。
- [5] トランスグルタミナーゼを作用させる後の加熱処理が100～200℃で20～80秒加熱する請求項1の製造法。
- [6] トランスグルタミナーゼの作用の程度が、トランスグルタミナーゼ反応後Glu-Lysの結合数が、蛋白質1g当たり 10^{10} ～ 10^{25} 個存在する請求項5の製造法。
- [7] 請求項1の方法により製造された大豆蛋白及び肉原料を混合成型し、加熱することを特徴とする肉加工食品の製造法。
- [8] 大豆蛋白、肉及び水をブレンドまたは細断しケーシングに充填し加熱する請求項7の肉加工食品の製造法。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/005852

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.⁷ A23J3/34, 3/16, A23L1/314

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.⁷ A23J3/34, 3/16, A23L1/314

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAplus/WPIDS (STN), JSTPlus (JOIS)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>X</u> Y	JP 02-257831 A (Ajinomoto Co., Inc.), 18 October, 1990 (18.10.90), Full text (Family: none)	<u>1-4</u> 4, 5
Y	JP 50-52256 A (Ajinomoto Co., Inc.), 09 May, 1975 (09.05.75), Full text (Family: none)	4, 5
Y	JP 55-118351 A (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 11 September, 1980 (11.09.80), Full text (Family: none)	4, 5



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 June, 2005 (20.06.05)

Date of mailing of the international search report

05 July, 2005 (05.07.05)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/005852

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
<u>X</u> Y	JP 04-63548 A (Ajinomoto Co., Inc.), 28 February, 1992 (28.02.92), Full text (Family: none)	<u>1-3</u> 4, 5
A	BABIKER, E.E. et al., "Effect of transglutaminase treatment on the functional properties of native and chymotrypsin-digested soy protein", Food Chemistry, (2000), Vol.70, pages 139 to 145, full text	1-5
A	RAMIREZ-SUAREZ, J.C. and XIONG, Y.L., "Effect of transglutaminase-induced cross-linking on gelation of myofibrillar/soy protein mixtures", Meat Science, (2003), Vol.65, pages 899 to 907, full text	1, 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/005852

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The matter common to claims 1 to 8 resides in "a process for producing a soybean protein by treating a soybean protein slurry with transglutaminase, wherein heating is performed before or after the treatment with the transglutaminase". However, it is clarified that this common matter is not novel, since a document (JP 02-257831 A (Ajinomoto Co., Inc., 18 October, 1990 (18.10.90)) presented as prior art by the applicant discloses "a process for producing a soybean protein powder which comprises extracting defatted soybeans with water, subjecting the thus obtained defatted soymilk to isoelectric precipitation to thereby remove whey, adding water to the thus obtained protein curd, (continued to extra sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Claims 1 to 5.

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet (2)

neutralizing it stepwise with NaOH to give a neutralized slurry, treating the neutralized slurry with transglutaminase, and then heating to 120°C" (EXAMPLE 1). Moreover, "a process for producing a soymilk powder which comprises heating a soybean slurry at 100°C for 2 minutes before treating with transglutaminase" (EXAMPLE 2) is described in the above document.

Such being the case, the inventions as claimed in claims 1 to 8 are divided into the following three general inventive concepts, i.e., "a production process for producing a soybean protein by heating before the transglutaminase treatment wherein a soybean protein solution or a soybean protein slurry is obtained by subjecting defatted soymilk to isoelectric precipitation", "a production process wherein the treatment with transglutaminase is effected to such an extent that there are 10^{10} to 10^{25} Glu-Lys bonds per g of protein after the completion of the transglutaminase reaction", and "a process for producing a processed meat food characterized by comprising mixing a soybean protein with a meat material, molding the mixture and then heating".

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A23J3/34, 3/16, A23L1/314

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ A23J3/34, 3/16, A23L1/314

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus/WPIDS (STN)
JSTPlus (JOIS)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X ----- Y	JP 02-257831 A, (味の素株式会社), 1990.10.18, 全文 (ファミリーなし)	1-4 ----- 4,5
Y	JP 50-52256 A, (味の素株式会社), 1975.05.09, 全文 (ファミリーなし)	4,5
Y	JP 55-118351 A, (協和発酵株式会社), 1980.09.11, 全文 (ファミリーなし)	4,5

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

20.06.2005

国際調査報告の発送日

05.07.2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

伏見 邦彦

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

4B

3334

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X -----	JP 04-63548 A, (味の素株式会社), 1992.02.28, 全文 (ファミリーなし)	1-3 -----
Y		4,5
A	BABIKER, E.E. et al., "Effect of transglutaminase treatment on the functional properties of native and chymotrypsin-digested soy protein", Food Chemistry, (2000), Vol.70, pp.139-145, 全文	1-5
A	RAMIREZ-SUAREZ, J.C. and XIONG, Y.L., "Effect of transglutaminase-induced cross-linking on gelation of myofibrillar/soy protein mixtures", Meat Science, (2003), Vol.65, pp.899-907, 全文	1,4

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1 ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1 ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるときの国際調査機関は認めた。

請求の範囲 1-8 に共通の事項は「大豆蛋白スラリーにトランスグルタミナーゼを作用させて大豆蛋白を製造する方法において、トランスグルタミナーゼを作用させる前または後に加熱処理をする方法」であるが、出願人が従来技術として記載した文献(JP02-257831 A, (味の素株式会社), 1990.10.18)には、「脱脂大豆から水抽出した脱脂豆乳を、等電点沈殿させてホエイを除去したタンパクカードに、加水しNaOHによって段階的に中和した中和スラリーを得、当該中和スラリーにトランスグルタミナーゼを作用させた後、120℃で加熱処理する、大豆タンパク粉末の製造法」が開示されているから(実施例 1)、上記共通の事項は新規でないことが明らかとなった。さらに、上記文献には、「トランスグルタミナーゼを作用させる前に、大豆スラリーを 100℃で 2 分間加熱する豆乳粉末の製造法」も記載されている(実施例 2)。

それ故、請求の範囲 1-8 に記載の発明は、「トランスグルタミナーゼを作用させる前に加熱処理をする大豆蛋白を製造する方法であって、大豆タンパク質スラリーまたは大豆タンパク質溶液を、脱脂豆乳を等電点沈殿させて得る製造法」の一般的発明概念、「トランスグルタミナーゼの作用の程度が、トランスグルタミナーゼ反応後 Glu-Lys の結合数が、蛋白質 1g 当たり $10^{10} \sim 10^{25}$ 個存在する製造法」の一般的発明概念、「大豆蛋白及び肉原料を混合成型し、加熱することを特徴とする肉加工食品の製造法」の一般的発明概念の 3 つに分類される。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☒ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

請求の範囲 1-5

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。